CLARISSA CAMARGO

EXPRESSÃO DA CICLOOXIGENASE – 2 (COX-2) EM CARCINOMAS MAMÁRIOS ESPONTÂNEOS EM CADELAS

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, SP, para obtenção do grau de médica veterinária.

Preceptor: *Prof. Dr.* Márcio Garcia Ribeiro

Botucatu
2009

CLARISSA CAMARGO

EXPRESSÃO DA CICLOOXIGENASE – 2 (COX-2) EM CARCINOMAS MAMÁRIOS ESPONTÂNEOS EM CADELAS

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, SP, para obtenção do grau de médica veterinária.

Área de Concentração: Patologia Veterinária

Preceptor: *Prof. Dr.* Márcio Garcia Ribeiro

Coordenador de Estágios: *Prof. Dr.* Francisco José Teixeira Neto

Botucatu
2009

Resumo

A imunoistoquímica para a expressão da ciclooxigenase -2 (COX-2) para o câncer de mama na mulher tornou-se aplicação rotineira devido a relevância biológica. Acredita-se que a COX-2 esteja intimamente relacionada à angiogênese tumoral, inibição do mecanismo de apoptose, adesão e metástases. Dessa forma, a expressão de COX-2 contribui para verificar o potencial maligno de câncer de mama. Entretanto, pouco utilizado em carcinomas mamários espontâneos em cadelas. Em vista disto, os inibidores da COX-2 surgem como perspectiva promissora na prevenção e o tratamento de alguns tipos de câncer.

O presente trabalho de conclusão de curso teve como objetivo demonstrar a ocorrência da expressão da COX-2 em alguns carcinomas mamários espontâneos em cadelas.

Palavras-chave: ciclooxigenase-2; carcinoma; mamária; neoplasia; cadelas.

Abstract

The immunohistochemistry regarding the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) for the woman's breast cancer became a routine application due to the biological relevance. It is possible that COX-2 is closely related to tumor angiogenesis, inhibition of apoptosis mechanism, adhesion and metastasis. Herewith the COX-2 expression contributes to verify the malignant potential of the breast cancer. However it is slightly used in female dog's spontaneous breast carcinomas. Keeping this in mind, the \cox-2 inhibitions appear as a promising perspective for the prevention and treatment of some sorts of cancer.

The present dissertation had as main purpose to show the occurrence of the COX-2 expression in some of the female dog's spontaneous breast carcinomas.

Key-words: cyclooxygenase-2; carcinoma; mammary; neoplasm; female dog.

Sumário

página

Resumo..... 3
Abstract..... 4
1. Introdução..... 6
2. Revisão de literatura..... 9
3. Considerações finais..... 13
4. Referências Bibliográficas..... 14

1. Introdução

O tumor mamário é a neoplasia mais comum em cadelas (HELLER *et al*., 2005). Cerca de 50% de todos estes tumores são diagnosticados como malignos (MOULTON, 1990). A etiologia desta neoplasia é complexa e ainda não foi totalmente elucidada. No entanto fatores genéticos, hormonais, nutricionais, ambientais e carcinogênicos podem atuar como mediadores da tumorogênese (PAWLOWSKY *et al*., 2009). O papel do estrógeno e da progesterona no desenvolvimento da glândula mamária tem sido estudado por vários autores. Lana *et al.* (2007) associaram a ocorrência direta destes tumores com o estado reprodutivo das fêmeas caninas, visto que a maioria das neoplasias mamárias em cães são hormônio-dependentes.

A ocorrência de desenvolvimento de carcinoma mamário em cadelas ovariectomizadas antes do primeiro ciclo estral é cerca de 0,05%. Em contraste, em cadelas castradas após o segundo estro, a ocorrência aumenta para 26% (SCHNEIDER *et al*, 1969). Lana *et al.* (2007) descreveram que a idade média da manifestação do tumor de mama é de 10 a 11 anos de idade e, raramente, em cadelas com idade abaixo de quatro anos. Misdorp (1996) afirmou que a incidência dos tumores de mama em cadelas aumentam ao redor de 6 a 7 anos de idade. Itoh *et al.* (2005) estudaram 101 tumores de mama em animais de raças de pequeno e grande porte, e observaram que 25% dos cães de raças pequenas possuíam tumores malignos em comparação aos 58% dos cães de raças grandes.

O prognóstico dos tumores de mama em cadelas está diretamente relacionado a fatores como tamanho do tumor, envolvimento de linfonodos, presença de metástases, tipo histológico, graduação histológica, grau de diferenciação nuclear, grau de invasão, crescimento intravascular e presença de receptores de estrógeno (LAVALLE *et al.,*

2008). O tratamento de eleição para tumores de mama na cadela é a excisão cirúrgica, com exceção nos carcinomas inflamatórios e casos de metástase (BRODEY *et al*., 1983). Para pacientes com carcinoma inflamatório preconiza-se o tratamento sintomático, enquanto nos pacientes com metástase é realizada também a quimioterapia. Entretanto, deve-se ressaltar que a quimioterapia não é utilizada com freqüência e que nenhum protocolo adjuvante tem sido efetivo (LAVALLE *et al.,* 2008).

Desde 1980, estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos têm relacionado o desenvolvimento e a progressão tumoral com a presença da ciclooxigenase (COX) em células tumorais humanas (BOONSODA & WANIKIAT, 2008). A ciclooxigenase (COX), também conhecida como prostaglandina G/H sintase, é a enzima responsável pela síntese de todas as prostaglandinas originadas a partir do ácido aracdônico (SMITH, 1992). Apresenta papel regulador na fisiologia celular, liberada a partir de fosfolipídeos de membrana regulada pela enzima fosfolipase A2, ativada por diversos estímulos (químico, inflamatório, traumático, mitogênico) (KUMMER & COELHO, 2002). Esta enzima é composta por duas subunidades de 70000 Daltons e um grupo heme (VAN DER OUDERAA *et al*., 1979). Duas isoformas da COX foram identificadas e denominadas Ciclooxigenase-1 (COX-1), conhecida como a forma constitutiva, e Ciclooxigenase-2 (COX-2), referida como a forma induzida. Praticamente em quase todos os tecidos normais foi detectada a presença estrutural da COX-1 (DUBOIS *et al*.,1998), que desenvolve funções vitais na fisiologia celular normal, incluindo a proteção às células da mucosa gástrica, regulação do fluxo sanguíneo renal e agregação plaquetária. Baixos a indetectáveis níveis da COX-2 foram identificadas nos tecidos normais, com exceção de rins, cérebro, ossos e cartilagens, que expressaram níveis significativos da forma induzida (BOONSODA & WANIKIAT, 2008).

Os níveis da COX-2 apresentam-se mais elevados na presença de citocinas, fatores de crescimento e estimulantes tumorais (FITZGERALD & PATRONO, 2001), sugerindo sua participação nas neoplasias e em

processos inflamatórios (KUMMER & COELHO, 2002). A expressão da COX-2 foi encontrada em vários tumores humanos, incluindo em cólon, pulmão, mama, gástrico, próstata, cabeça, pescoço e bexiga (DEMPKE *et al*., 2001, THUN *et al*., 2002). A COX-2 também tem sido demonstrada em neoplasias que acometem os cães, como carcinomas de células escamosas (ALMEIDA *et al*., 2001, MOHAMMED *et al*., 2004), carcinomas de células renais (KHAN *et al*., 2001), carcinoma de células transicionais (KHAN *et al*., 2000, MOHAMMED *et al*., 2004), adenocarcinomas prostáticos (BOUTEMMINE *et al*., 2002, MOHAMMED *et al*., 2004) e neoplasias intestinais (McENTEE *et al*., 2002). Uma expressão mínima tem sido evidenciada em alguns tumores mesenquimais e linfoma (MOHAMEED *et al*., 2001). Recentemente, a expressão da COX-2 foi demonstrada em tumores mamários caninos, de maneira mais freqüente e intensa em tumores malignos do que em benignos, sugerindo que a COX-2 pode estar associada com a evolução dos tumores para formas malignas (DORÉ *et al*., 2003). Com efeito, com base em estudos da expressão da COX-2 em certos tipos de câncer, tem sido proposto o uso de fármacos inibidores da COX-2 na prevenção e no tratamento de neoplasias (BOONSODA & WANIKIAT, 2008).

O presente estudo procurou revisar os principais aspectos da expressão da ciclooxigenase-2 nos carcinomas mamários em cadelas.

2. Revisão de Literatura

Nas últimas décadas, diferentes autores têm investigado o papel da COX-2 em vários tipos de cânceres em humanos e em animais (TAKETO, 1998), bem como comparado os principais aspectos da fisiopatologia dos tumores espontâneos mamários caninos com o câncer de mama em humanos (VAIL & MaCEWEN, 2000; MOHAMMED *et al*., 2004). Evidências apontam as múltiplas ações da superexpressão da enzima COX-2 nas neoplasias, como o aumento na produção de prostaglandina E2 (PGE2) que contribui para a malignidade tumoral (PARHAR & LALA, 1988; BROCK *et al*., 1999) e supressão do sistema imune (SHARMA *et al*., 2003). A maior expressão de COX-2 nas células tumorais estimula a angiogênese (GROSCH et al., 2006), uma vez que esta enzima possui ação reguladora sobre vários fatores pró-angiogênicos, como o fator de crescimento endotelial vascular – VEGF (Vascular endothelial growth factor) – e o fator de crescimento de fibroblastos – FGF (Fibroblast growth factor) (LAVALLE *et al*., 2008). A neovascularização promove a nutrição e o crescimento tumoral, além de contribuir na metastatisação (DEMPKE *et al*., 2001).

A COX-2 também tem sido relacionada à inibição da apoptose. Sugere-se que a síntese de PGE2, a inibição da proteína pró-apoptótica bax (B-cell lymhoma 2-associated protein X) e a superexpressão da proteína anti-apoptótica bcl-2 (B-cell lymphoma/leukemia-2) contribuam para a inibição da apoptose (CHOW, *et al*., 2005), o qual permite o prolongamento no tempo de vida da célula tumoral, favorecendo, portanto, o acúmulo seqüencial de mutações, as quais podem aumentar o risco da carcinogênese (DEMPKE *et al*., 2001). Outros mecanismos pelos quais a COX-2 contribui para o desenvolvimento tumoral incluem a facilitação de adesão celular e o aumento da capacidade da célula

tumoral em invadir tecidos locais e sítios distantes do tumor primário (DUNCAN & LASCELLES, 2007).

As recentes descobertas da presença da COX-2 em diversos tipos de tumores em humanos e em cães, têm estimulado estudos visando determinar a expressão e o papel da COX-2 nos carcinomas mamários espontâneos em cadelas, muitas vezes associando esta expressão com o tipo histológico da neoplasia (HELLER *et al*., 2005).

Doré *et al*. (2003) avaliaram pioneiramente a expressão da COX-2 em 147 casos de tumores mamários caninos utilizando o método de imunohistoquímca no diagnóstico. No mesmo estudo, quatro amostras de tecido mamário de cadelas normais também foram avaliadas para a presença de expressão da COX-2. Foi observado que 63 adenomas (24%) e 84 adenocarcinomas (36%) expressaram algum grau da COX-2 e que a intensidade dessa expressão foi significantemente maior nas neoplasias malignas. Os resultados das amostras de tecidos de glândula mamária normal foram negativos para COX-2 em todos os casos.

Heller *et al.* (2005) analisaram 50 amostras de três tipos de tumores mamários malignos caninos (adenocarcinoma, carcinoma sólido e carcinoma anaplásico) pelo método de imunohistoquímica, atribuindo notas aos tumores que expressaram positividade para a COX-2, em relação à sua distribuição e à intensidade nas células. Os resultados revelaram marcação positiva da expressão da COX-2 em 56% das 50 amostras tumorais analisadas. A expressão da COX-2 nas neoplasias estudadas revelou que 46% dos adenocarcinomas (n=37), nenhum dos carcinomas sólidos (n=2) e 100% dos carcinomas anaplásicos (n=11) expressaram alguma marcação da COX-2. Os achados deste estudo revelaram que os tumores pouco diferenciados expressaram a COX-2 com maior intensidade e freqüência quando comparados com tumores mais diferenciados, como os adenocarcinomas. Estes achados foram também similares aos encontrados em carcinoma mamário em humanos (RISTIMAKI et al., 2002). Os dois carcinomas sólidos não apresentaram

nenhum grau de expressão de COX-2. Tal fato poderia ser atribuído ao comportamento biológico deste tipo histológico de tumor.

Queiroga *et al.* (2005) investigaram 129 carcinomas mamários espontâneos de 57 cadelas de diferentes raças, com idade variável entre 6 e 14 anos de idade. Os tumores foram analisados quanto ao tamanho, aderência à pele e/ou tecidos adjacentes e quanto à presença de ulceração de pele. Os linfonodos regionais também foram inspecionados quanto a possível acometimento metastático. As 129 lesões mamárias caninas (22 displasias, 40 tumores benignos, 57 carcinomas mamários não inflamatórios e 10 carcinomas mamários inflamatórios) foram submetidas a exames histopatológicos. Os valores de COX-2 entre os grupos tumorais foi significantemente diferente, com exceção entre as displasias e os tumores benignos. Nos carcinomas não inflamatórios, a detecção da COX-2 foi mais alta nos tumores ulcerados quando comparados aos tumores não ulcerados. Ademais, a detecção da COX-2 foi superior em tumores maiores quando comparados à tumores menores. Igualmente, os níveis de COX-2 encontravam-se significantemente elevados em tumores com rápida taxa de crescimento, aderidos à pele e em tumores com aderência aos tecidos subjacentes. O acompanhamento de sobrevida foi realizado com 25 animais com tumores malignos carcinomas não inflamatórios. O período médio de acompanhamento foi de 18 meses, e revelou que os tumores que possuíam maiores valores de expressão de COX-2 apresentaram maiores taxas de reincidência e de metástase. Desta forma, a expressão de COX-2 foi relacionada a redução do período de sobrevivência em cadelas com tumores mamários malignos não inflamatórios.

Relatos na literatura oncológica humana e veterinária têm descrito a ação quimiopreventiva e antitumoral dos inibidores de COX-2 contra o câncer de bexiga, câncer de cólon e outros carcinomas (BEAM *et al.*, 2003; HENRY, 2003). Os ensaios clínicos de Giardiello *et al*. (1995) com antiinflamatórios não esteróides em pacientes humanos com pólipos

adenomatosos intestinais evidenciaram que o tratamento com estes fármacos promove a regressão dos adenomas pré-existentes. Em modelos de carcinogênese mamária em camundongos, o inibidor seletivo para a COX-2 (celecoxib) reduziu o desenvolvimento do tumor mamário e o tamanho de tumores pré existentes (HARRIS *et al*., 2000). Estes estudos indicam a ação da COX-2 na patogênese do câncer e sugerem que a inibição desta enzima utilizando antiinflamatórios inibidores seletivos de COX-2, pode ser efetivo na quimioprevenção e tratamento do câncer (BOONSODA & WANIKIAT, 2008).

CHOW *et al.,* (2005) propõe também que o uso de inibidor de COX-2 associado à quimioterapia pode se constituir em boa opção no tratamento de câncer de mama em cadelas. Lavalle *et al.* (2008) observou que, após a excisão cirúrgica, a administração de piroxicam (inibidor não seletivo para COX-2) associado ao uso de carboplatina em cadela que apresentava carcinoma mamário tubulopapilar grau II, com comprometimento de linfonodos regionais, e positividade para a expressão da COX-2, permitiu boa evolução clínica da paciente, sem recidiva ou ocorrência de metástase pulmonar durante um período de 810 dias de acompanhamento do animal.

A comparação do uso de piroxicam e da doxorrubicina em casos de carcinoma mamário inflamatório em cadelas com expressão da COX-2 revelou estabilização da progressão da doença por 185 dias em todos os animais tratados com piroxicam, com sobrevida somente de 7 dias para animais tratados apenas com doxorrubicina.

O uso de antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) tem mostrado bons resultados em certos tipos de carcinomas. A aplicação dos inibidores da COX-2 em medicina veterinária ainda é limitada devido à escassez de informações sobre a eficácia e segurança do fármaco, bem como o número doses de aplicação e associação à outros quimioterápicos (BOONSODA & WANIKIAT, 2008).

3. Considerações Finais

A enzima COX-2 tem sido utilizada recentemente como importante marcador biológico na detecção da evolução de neoplasias de mama em cadelas assim como em diferentes tumores em medicina humana.

Devido à diversidade histológica dos tumores mamários, há grande variação na expressão da COX-2 nos diferentes tipos de tumor. A expressão de COX-2 mostrou-se elevada nos tumores malignos e com pior prognóstico, como carcinomas anaplásicos e inflamatórios. No entanto, a real implicação da COX-2 ainda não foi totalmente elucidada, e tem sido pesquisada associada à outros mecanismos carcinogênicos, como fatores de crescimento, citocinas, oncogenes, genes supressores tumorais. Além disso, a presença desta enzima tem sido investigada também nos tecidos normais adjacentes à formação neoplásica, de forma a estabelecer a possível influência da COX-2 entre os componentes teciduais.

O uso dos antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) tem mostrado bons resultados, nos carcinomas transicionais de bexiga em cães. Com efeito, a administração destes fármacos mostra resultados promissores na terapia de neoplasias em medicina veterinária, particularmente nos casos de carcinomas mamários espontâneos em cadelas.

4. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, E. M. P., PICHE, C., SIROIS, J. & DORE, M. Expression of cyclooxygenase-2 in naturally occurring squamous cell carcinomas in dogs. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 49, p. 867-875, 2001.

BEAM, S. L.; RASSNICK, K. M.; MOORE, A. S.; MCDONOUGH, S. P. An immunohistochemical study of ciclooxigenase-2 expression in various feline neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 496-500, 2003.

BOONSODA, S., WANIKIAT, P. Possible role of cyclooxygenase-2 as anticancer agents. **Veterinary Record**, v. 162 , p. 159-161, 2008.

BOUTEMMINE, D., BOUCHARD, N., BOERBOOM, D., JONES, H. E., GOFF, A. K., DORÉ, M. & SIROIS, J. Molecular characterization of canine prostaglandin G/H synthase-2 and regulation of prostatic adenocarcinoma cells in vitro. Endocrinology, v. 143**,** p.1134-1143, 2002.

BROCK, T.G., McNISH, R.W. and PETERS-GOLDEN, M.). Arachidonic acid is preferentially metabolized by cyclooxygenase-2 to prostacyclin and prostaglandin E2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274,p. 11660-11666, 1999.

BRODEY, R. S., GOLDSCHMIDT, M.H., Roszel J. R. Canine mammary gland neoplasms. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.19, p. 61-90, 1983.

CHOW, L. W., LOO, W. T. Y. TOI, M. Current directions for Cox-2 inhibition in breast cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 59, sup. 2, p .281-284, 2005.

DEMPKE, W., RIE, C., GROTHEY, A. & SCHMOLL, H. J. Cyclooxygenase-2: a novel target for cancer chemotherapy? **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 127, p.411-417, 2001.

DORÉ, M., LANTHIER, I. & SIROIS, J. Cyclooxygenase-2 expression in canine mammary tumours. **Veterinary Pathology**, v. 40**,** p. 207-212, 2003.

DUBOIS, R., ABRAMSON, S., CROFFORD, L. et al. Cyclooxigenase in biology and disease. **The Faseb Journal**, v. 12, p.1063-1088, 1998.

DUNCAN, B., LASCELLES, X. Management of Chronic Cancer Pain. *In*: Supportive Care for the Cancer Patient. *In*: **Small Animal Clinical Oncology**, 4th edition, Withrow and MacEwen`s, Ed. Saunders Elsevier, p. 291-306, 2007.

FITZGERALD, G.A., PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitor of cyclooxygenase-2. **The New England Journal of Medicine**. V. 345, p.433-442, 2001.

GIARDIELLO, F. M., OFFERHAUS, G. J. A., DUBOIS, R. N. The role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in colorectal cancer prevention. European. **Journal of Cancer**, v. 31, p. 1071-1076, 1995.

GROSCH, S., MAIER, T.J., SCHIFFMANN, S., GEISSLINGER, G. Cyclooxygenase-2 (Cox-2) Independent anti-carcinogenic effects of selective Cox-2 inhibitors. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 98, n. 11, p.736-747, 2006.

HARRIS, R.E., ALSHAFIE, G.A., ABOU-ISSA, H., SEIBERT, K. Chemoprevention of breast cancer in rats by celeCoxib, a cyclooxygenase 2 inhibitor. **Cancer Research**, v. 6, p. 2101-2103, 2000.

HELLER, D.A., CLIFFORD, C.A., GOLDSCHMIDT, M.H., HOLT, D.E., SHOFER, F.S., SMITH, A., SORENMO, K.U. Cyclooxygenase-2 Expression is Associated with Histologic Tumor Type in Canine mammary Carcinoma. **Veterinary Pathology**, v. 42, p. 776-780, 2005.

HENRY, C. J. Management of transitional cell carcinoma. **The Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 33, p 597-613, 2003.

ITOH, T., UCHIDA, K., ISHIKAWA, K. *et al*. Clinicopathological survey of 101 canine mammary gland tumors: differences between small-breed dogs and others, **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.67, p.345-347, 2005.

KHAN, K. N. M., KNAPP, D. W., DENICOLA, D. B. & HARRIS, R. K. Expression of cyclooxygenase-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 478-481, 2000.

KHAN, K. N. M., STANFIELD, K. M., TRAJKOVIC, D. & KNAPP, D. W. Expression of cyclooxygenase-2 in canine renal cell carcinoma. **Veterinary Pathology**, v. 38, p. 116-119, 2001.

KUMMER, C.L., COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, 2002.

LANA, S. E., RUTTERMAN, G.R., WITHROW, S.J. Tumors of the Mammary Gland. *In:* **Small Animal Clinical Oncology**, 4th ed., Withrow and MacEwen`s**,** Ed. Saunders Elsevier, p. 619-636, 2007.

LAVALLE, G. E., BERTAGNOLI, A. C., CASSALI, G. D. Uso da Carboplatina associada a inibidor de Cox-2 no tratamento de carcinoma da glândula mamária de cadela com metástase em linfonodo – relato de caso. **Clínica Veterinária**, n. 77, p. 80-84, 2008.

McENTEE, M. F., CATES, J. M., NEILSON, N. Cyclooxygenase-2 expression in spontaneous intestinal neoplasia of domestic dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39**,** p. 428-436, 2002.

MISDORP, W. Veterinary cancer epidemiology. **Veterinary Quarterly**, v. 18, p.32- 36, 1996.

MOHAMMED, S. I., COFFMAN, K., GLICKMAN, N. W., HAYEK, M. G., WATERS, D. J., SCHLITTLER, D., DENICOLA, D. B. & KNAPP, D. W. Prostaglandin E2 concentrations in naturally occurring canine cancer.

Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v. 64**,** p.1-4, 2001.

MOHAMMED, S. I., KHAN, K. N., SELLER, R. S., HAYEK, M. G., DENICOLA, D. B., WU, L., BONNEY, P. L. & KNAPP, D. W. Expression of cyclooxygenase-1 and 2 in naturally-occurring canine cancer. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, v. 70, p. 479-483, 2004.

MOULTON, J.E. Tumors of the skin and soft tissues. *In:* **Tumors in Domestic Animals**, ed. Moulton JE, 3rd ed., p.23, University of California Press, Los Angeles, CA, 1990.

PARHAR, R.S. and LALA, P.K. Prostaglandin E2 mediated inactivation of various killer lineage cells by tumor-bearing host macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 44, p. 474-484, 1988.

PAWLOWSKY, K. M., KROL, M., MAJEWSKA, A., BADOWSKA-KOZAKIEWICZ, A., MOL, J.A., MALICKA, E., MOTYLl, T. Comparison of cellular and tissue transcriptional profiles in canine mammary tumor. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.60, suppl 1, p. 85-94, 2009.

QUEIROGA, F.L., PEREZ-ALENZA, M.D., SILVAN, G., PEÑA, L., LOPES, C., ILLERA, J.C. Cox-2 Levels in Canine Mammary tumors, Including Inflammatory Mammary Carcinoma: Clinicopathological Features and Prognostic Significance. **Anticancer Research**, v.25, p.4269-4276, 2005.

RISTIMAKI, A, SIVULA, A, LUNDIN, J. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. **Cancer Research**, v. 62, n.3, p.632–635, 2002.

SCHNEIDER, R,. DORN, C.R, TAYLOR, D.O. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. **Journal of the National Cancer Institute**, v.43, n.6, p.1249–1261, 1969.

SHARMA, S., STOLINA, M., YANG, S., BARATELLI, F., LI, J., ATIANZAR, K., LUO, J., ZHU, L., LIN, Y., HUANG, M., DOHDW, A., BATRA, R. K.,

DUBINETT S.M. Tumor cyclooxygenase-2 dependent suppression of dendridic cell fuction. **Cancer Research**, v. 9, p. 961-968, 2003.

SMITH, W.L. Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. American Journal of Physiology, v. 263, p.181-191, 1992.

TAKETO, M.M. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 90, p.1609–1620, 1998.

THUN, M. J., HENLEY, S. J. & PATRONO, C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues**. Journal of the National Cancer Institute**, v. 94**,** 252-266, 2002.

VAIL, D.M. and MaCEWEN, E.G. Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. **Cancer Investigation**, v. 18, p. 781-792, 2000.

VAN DER OUDERAA, F.J., BUYTENHEK, M., SLIKKERVEER, F.J., VAN DORP, D.A. On the haemoprotein character of prostaglandin endoperoxide synthetase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 572, p. 29-42. 1979.